上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co.， Ltd
电话：400-666-5481　传真：021-55068248
网址：www.shyuanye.com
邮箱：3008007435@qq.com

超氧阴离子自由基清除能力试剂盒(邻苯三酚法)

微板法

货号：R45146-96S

产品简介：

超氧阴离子自由基作为生物体代谢过程中产生的一种自由基，可攻击生物大分子，引起细胞结构和功能的破坏，与机体衰老和病变有很密切的关系，清除超氧阴离子自由基 的研究已经得到了广泛的关注。

在弱碱性条件下，邻苯三酚能发生自氧化反应产生超氧阴离子和有色中间产物，该中 间产物在320nm 处有特征吸收峰。当加入超氧阴离子清除剂时，它能迅速与超氧阴离子反应从而阻止中间产物的积累，使溶液在320nm 处光吸收减弱。故可以通过测定A320 值来评价清除剂对超氧阴离子的清除能力。

试剂盒组分与配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体45mL×1瓶	4℃保存	
试剂二	粉剂mg×2支	4℃保存	临用前甩几下，使粉剂落到底部， 每支再加1.1mL蒸馏水充分溶解
试剂三	液体2mL×1支	4℃保存	

所需的仪器和用品：

酶标仪、96孔板、可调式移液器、天平、离心机。

超氧阴离子清除能力的测定：

1、样本制备：

①组织样本：称取0.1g 样本(若是干样可取0.02-0.05g), 加入1mL 的80%乙醇(自备)进行匀浆，匀浆后转入2mL离心管中；于50℃,200-300W条件下超声提取30min (间隔5min 振荡混匀一次)。若有损耗需用80%乙醇定容至1mL,12000rpm 室温离心10min, 取上清待测。

②细菌/细胞样本：

先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取约500万细菌或细胞加入1mL80%乙醇(自备)提取液，超声波破碎细菌或细胞(冰浴，功率200W, 超声3s, 间隔 10s, 重复30次);12000rpm 室温离心10min, 取上清测定。

【注】:若增加样本量，可按照细菌/细胞数量(10^4):提取液 (mL) 为500~1000:1的比例进行提取。

③液体：直接检测；若浑浊，离心后取上清检测。

2、上机检测：

①酶标仪预热30min以上，调节波长至320nm,试剂一和二需于室温(25℃)预热20min。

②在96孔板中依次加入下列试剂：

试剂名称(μL)	测定管	对照管	空白管(仅做一次)
试剂一	200	200	200
室温(25℃)孵育20min			
样本	10	10	
蒸馏水		20	10
试剂二	20		20
室温(25℃)孵育4min			
试剂三	10	10	10
混匀，3min后于320nm处读取各管吸光值A。			

【注】:1.不同样本清除能力不一，可先选取2个样本做检测，若A空白大于1.5可缩短反应时间 (如由5min 减至2min);

2.若A 测定减A 对照的差值大于空白管，需增加样本加样量(如由10μL 增至40μL, 则试剂一相应减少);若A 测定减A对照的差值小于0.1,需对样本用80%乙醇稀释后再检测。

结果计算：

超氧阴离子清除率 I%=[1-(A测定-A对照)÷A空白]×100%